

H. Stiene

Mainz 1974



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552610_0064

Klinik und Poliklinik für Zahn-, Mund- und
Kieferkrankheiten
Kieferchirurgische Klinik der
Johannes Gutenberg-Universität
Mainz

In Vitro-Versuche zur Temperaturmessung in der Pulpa isolierter menschlicher Zähne bei extremer Vereisung

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde der Zahnheilkunde
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

den medizinischen Fachbereichen
vorgelegt von Hubert Stieve aus Berlin
Mainz, 1974



Fachbereichsdekan: Professor Dr. Dr. W. Ketterl
Referent: Professor Dr. Dr. Hausamen
Korreferent: Professor Dr. Dr. W. Ketterl

Meinen Eltern
in Dankbarkeit
gewidmet.

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung und Problemstellung	5
II. Kryobiologische Grundlagen	7
III. Eigene Experimentelle Untersuchungen	14
1. Methodik	14
A Beschreibung der Geräte	14
B Eichung der Kältesonde	18
C Kälteversuche an der Pulpa menschlicher Zähne	21
2. Ergebnisse	24
IV. Diskussion	32
V. Zusammenfassung	37
VI. Literaturangaben	I
VII. Lebenslauf	VII

I. Einleitung und Problemstellung

Bereits 1883 berichtete Openchowski über die Zerstörung verschiedener Zentren im Gehirn von Hunden durch Anwendung der Gewebevereisung. Die erforderlichen tiefen Temperaturen wurden durch Verdampfen von Äther erzeugt. White (1899) behandelte Naevi, Warzen und Haemangiome durch lokale Gewebegefrierung mittels flüssiger Luft.

Eine systematische Anwendung der extremen Kälte zu Heilzwecken setzte jedoch exakte Kenntnisse der biologischen Vorgänge während des Gefriervorganges voraus. Diese Grundlagenforschung verdanken wir Lovelock (1953, 1954, 1957), Meryman (1956, 1957), Luyet (1957) sowie Mazur (1960, 1961, 1965), die insbesondere den biologischen Mechanismus der Zellschädigung durch tiefe Temperaturen erforschten und damit die Voraussetzung für den wissenschaftlichen und klinischen Einsatz der extremen Gewebevereisung schufen. In verschiedenen medizinischen Fachgebieten – wie der Neurochirurgie, Dermatologie und der Hals-Nasen-Ohren-Heilkunde wird die Kältetherapie seit etwa 10 Jahren erfolgreich therapeutisch eingesetzt, nachdem Cooper und Lee (1961) ein Gerät entwickelten, das es erlaubt, mit Hilfe von flüssigem Stickstoff vorgewählte Temperaturen bis -196°C zu erzeugen.

Auch in der Kieferchirurgie ergeben sich Indikationen zur Anwendung der extremen Kälte, z. B. bei der Therapie von benignen und malignen Tumoren. Hierbei ist die Frage noch offen, wie die Zahnhartsubstanz die tiefen Temperaturen

leitet und mit welchen Temperaturen in den Pulpen der Zähne bei Anwendung der Kryotherapie zu rechnen ist, wenn die Zähne direkt im Kälteherd stehen. Zur Beantwortung dieser Frage sollen die vorliegenden experimentellen Untersuchungen dienen.

II. Kryobiologische Grundlagen

Die Wirkung von tiefen Temperaturen auf isolierte lebende Zellen und lebende Gewebe ist in den letzten Jahren in einer Reihe von Untersuchungen beschrieben worden. Aufgrund dieser Untersuchungen wird die Anwendung von tiefen Temperaturen in zwei Gebiete mit grundsätzlich verschiedenen Zielen unterteilt. Zum einen wird die Kältekonservierung von lebenden Zellen angestrebt, bei der diese bei tiefen Temperaturen für längere Zeit in einem Ruhezustand aufbewahrt werden. Zum anderen wird die zerstörende Wirkung von kontrolliert applizierter tiefer Kälte zur Kryochirurgie verwandt. (Luyet und Gehenio 1940, Cooper 1971, Farrant 1971).

Das wässrige Milieu ist für alle Funktionen der lebenden Zelle unerlässlich. Es dient im Zellsystem als Lösungsmittel und als wichtiger Bestandteil von Proteinen und anderen hochmolekularen Substanzen. Wird diese wichtige Funktion durch Vereisen des gebundenen und ungebundenen intrazellulären Wassers gestört, so können sich irreversible Schädigungen der Zellen einstellen. (Meryman 1956, 1957; Mazur 1966; Rinfret 1968, Farrant, 1971, 1972).

Die lethale Wirkung von extremer Kälte auf Zellsysteme beruht auf einer Reihe von Faktoren. Hauptsächlich wird der Wasserverlust und die Konzentrationsänderung der Elektrolyte

in der Zelle durch die Bildung von Eiskristallen diskutiert. (Meryman 1956, 1967 ; Mazur 1966, Rinfret 1968).
Folgende physikalische Vorgänge während des Gefrier-
vorganges haben auf das Überleben der Zelle einen Einfluß:
(Farrant, 1971 1972 ; Mazur 1966 ; Rinfret 1968).

1. Bildung von extrazellulären Eiskristallen
2. Veränderung der Elektrolytkonzentration
3. Bildung von intrazellulären Eiskristallen
4. Denaturierung von Lipoproteinen

Einige Zellarten, so z. B. Spermatozoen, werden allein durch die Temperatursenkung geschädigt, bei den meisten anderen Zellen jedoch spielt die Temperaturveränderung allein, der sog. Thermoschock, keine wesentliche Rolle als Schädigungsmechanismus (Polge und Lovelock, 1952). Lovelock (1957) führt diese unterschiedliche Empfindlichkeit gegenüber Kältetemperaturen auf die unterschiedliche Zusammensetzung und Struktur der Lipoid-Proteine zurück. Nach Mazur (1968) beeinflußt insbesondere der Grad der Abkühlung und deren Einwirkungsdauer die Überlebensrate der Zellen. Allgemein gilt, daß Temperaturen zwischen -5°C und -50°C kritisch sind und die Lethalität mit fallender Temperatur steigt. Bei gleicher Gefriereschwindigkeit verursachen tiefere Temperaturen unter -50°C jedoch

keine größere Lethalität, und Zellen, die -50°C überleben, werden auch von tieferen Temperaturen bei gleicher Abkühlgeschwindigkeit nicht geschädigt.

Ursprünglich wurde angenommen, daß eine mechanische Schädigung der Zellmembran durch extrazelluläre Eiskristalle stattfindet (Lovelock 1953). Diese Hypothese wurde jedoch widerlegt durch den Nachweis, daß auch Zellen, die beim Gefrieren von großen extrazellulären Eiskristallen umgeben waren, den Gefriervorgang überlebten (Smith, 1961; Merryman, 1966). Gegenwärtig berichtet Ney (1968; 1970) jedoch, daß die beim Gefrieren von Erythrozyten mit Temperaturen um den Nullpunkt beobachtete Haemolyse aufgrund mechanischer Schädigung der Erythrozyten durch extrazelluläre Eisformation stattfindet.

Lovelock (1957) weist darauf hin, daß der Gefriervorgang nicht nur makroskopische Schäden induzieren kann, sondern auch die Mikrostrukturen der Lipoid-Proteine der Zelle angreift. Lipoid-Protein-Strukturen sind sehr instabil und werden in lebenden Zellen durch fortwährende Synthese aufrechterhalten. Bei Veränderung der Zellumgebung, so beim Gefriervorgang, dissoziieren sie.

Von vielen Autoren wurde beobachtet, daß bei langsamem Gefrieren von Gewebe die Eiskristallbildung in dem zellumgebenden Medium, also im extrazellulären Raum, beginnt. (Asahina, 1967; Merrymann, 1956; 1957; 1964; Mazur und

Schmidt, 1968). Das Wasser im Zellinnern bleibt bis um -15°C ungefroren, obwohl im extrazellulären Raum Eiskristalle vorhanden sind. Mazur (1960, 1968) erklärt diesen Vorgang durch das Fehlen eines Kristallisationskernes im Zellinnern.

Durch die Zellmembranen lebender Zellen diffundiert Wasser leichter als gelöste Moleküle. Bei der Umwandlung von extrazellulärem Wasser in Eis erhöht sich die Elektrolytkonzentration des extrazellulären Mediums. Das entstehende Konzentrationsgefälle zwischen intra- und extrazellulärem Raum wird durch Entzug von intrazellulären Wassermolekülen entlang der Dampfdruckgefälle kompensiert. Dies gilt jedoch nur für intakte Zellmembranen während eines langsamen Gefriervorganges, bei dem eine Zunahme der extrazellulären Eiskristalle sowie eine Dehydrierung und Schrumpfung der Zelle stattfindet. Dieser langsame Gefriervorgang wird als heterogene Nukleation beschrieben (Merryman 1956, 1957). Hierbei kommen nur die Zellmembranen mit den extrazellulären Eiskristallen in Berührung. Lovelock (1953) hält die in der Folge von extrazellulären Eisbildung und Zelldehydrierung sich verändernde intra- und extrazellulären Elektrolytkonzentration sowie eine gesteigerte Permeabilität der Zellmembran für Ionen für die Hauptsache der Zellschädigung beim Gefriervorgang.

Eine völlig andere Situation zeigt sich beim raschen Gefriervorgang mit Kühlgeschwindigkeiten von zehn bis einigen hundert

Grad Celsius pro min. Hier hat das intrazelluläre Wasser nicht die Möglichkeit, die Zellen zu verlassen, sondern es kommt zu einer raschen gleichmäßigen intra-sowie extrazellulären Eiskristallbildung, der homogenen Nukleation.

(Merryman 1956; 1957; Mazur und Schmidt 1968; Farrant 1971; 1972). Durch die Bildung von Eiskristallen im Zellinneren wird die Membranstruktur der Zelle schwer geschädigt.

Einfluß der Gefriergeschwindigkeit

Die Geschwindigkeit des Gefriervorganges ist von entscheidendem Einfluß auf die Letalität der Zelle. Bei feiner Abkühlung nur bis zu $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ kommt es zu einer extrazellulären Eisbildung mit gleichzeitigem Anstieg der Elektrolytkonzentration im Zellinnern durch Dehydration. Diese Konzentrationssteigerung kann bis in den toxischen Bereich erfolgen und die Zelle schädigen (Lovelock 1953; Mazur 1966). Dabei spielt die Sensibilität der Zelle gegenüber konzentrierten Elektrolyten sowie die Dauer ihrer Einwirkung eine große Rolle.

Bei Gefriergeschwindigkeiten von über $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$ bis $100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ findet eine Kristallbildung im Zellinnern statt (Mazur 1965). Auch bei raschen Gefriervorgängen gefriert das extrazelluläre Wasser zuerst und für kurze Zeit erfolgt dem osmotischen Gefälle folgend ein Wasseraustritt aus der Zelle. Umso weniger Wasser aber in der Zelle zu gefrieren vermag, umso geringer wird auch die schädigende Wirkung des Gefriervorganges. Zellen mit einer hohen Permeabilität für Wasser müssen also mit einer höheren Kühlgeschwindigkeit gefroren werden, um die eine lethale Wirkung zu erleiden. Nach Mazur (1968) ist eine Kühlgeschwindigkeit um $100^{\circ}\text{C}/\text{min}$ ausreichend und führt bei allen Zellarten zur intrazellulären Eisbildung mit ihren Folgen.

Das Vorkommen von intrazellulären Eiskristallen allein sichert noch nicht die lethale Wirkung. (Mazur und Schmidt 1968). Die Geschwindigkeit des Auftauens ist eine weitere entscheidende Komponente. Da bei raschem Gefrieren Kristalle von geringer Größe entstehen, füllen diese die freien Räume der Zelle aus, ohne zellschädigend zu wirken. Während eines langsamen Auftauvorganges findet jedoch eine Umkristallisation statt, bei der sich die kleinen Kristalle zu großen umwandeln. Durch diesen Umkristallisationsprozeß zerreißen die intrazellulären Strukturen. Diese Wirkung kommt einem mehrfachen Gefriervorgang gleich. (Mazur und Schmidt, 1968 ; Sigel und Schrott, 1967)

III. Eigene experimentelle Untersuchungen

1. Methodik

Mit der Kryotherapie streben wir einen genau definierten Kälteherd mit weitgehender Schonung der gesunden Umgebung an. Stehen vitale Zähne innerhalb des Gefrierherdes, so ist zu erwarten, daß die Temperatur auch in der Pulpe auf kritische Werte absinkt und eine Pulpennekrose eintritt. Zur Überprüfung des Ausmaßes des Temperaturabfalles im Pulpencavum haben wir in vitro Kälteversuche an frisch extrahierten, vitalen Zähnen durchgeführt.

A. Als Kältequelle benutzen wir den „Kryomed“ der Firma Leybold-Heraeus in Köln (s. Abb. 1). Die Kälteerzeugung dieses Gerätes beruht auf der Veränderung des Aggregatzustandes von flüssigem Stickstoff, der im Kältekopf der Kryosonde verdampft und Temperaturen bis -196°C erzeugt.

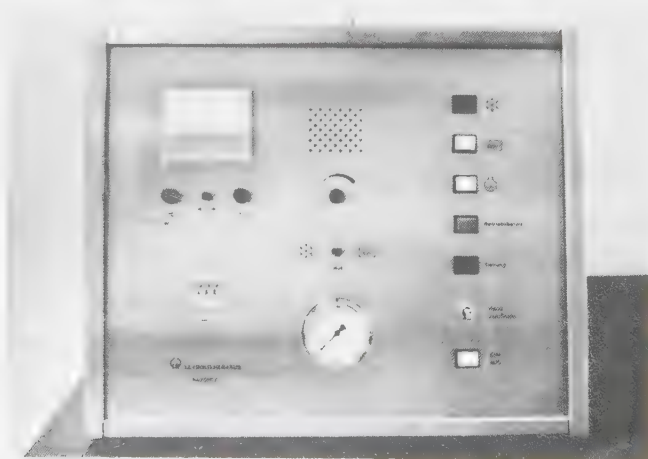


Abb. 1 Kryomedgerät

Thermoelemente in der Sondenspitze kontrollieren die entstehende Temperatur und regeln den Zufluß von flüssigem Stickstoff je nach der vorgewählten Temperatur.

Das Grundgerät ist aus zwei wesentlichen Elementen aufgebaut, dem Reservoir für flüssigen Stickstoff und einem elektronischen Reglerteil zur Regelung des Stickstoffzuflusses zur Kältesonde. Der Vorratsbehälter ist über einen flexiblen und vakuumisolierten Schlauch mit der Kältesonde verbunden, die mittels einer Schnellkupplung auf diesen aufgesteckt wird.

Alle Betriebsvorgänge des Gerätes werden automatisch gesteuert. Die gewünschte Temperatur des Sondenkopfes kann zwischen 0°C und – 196°C vorgewählt werden.

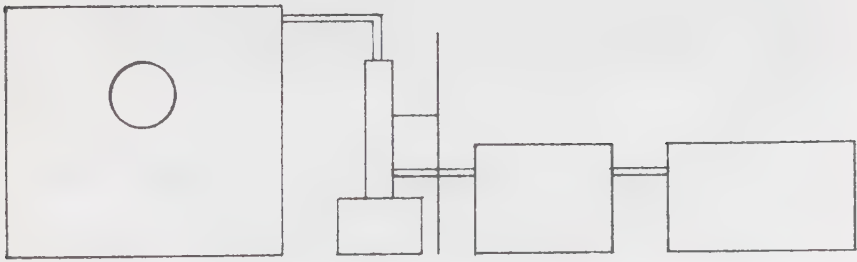
Die Kältesonden wurden speziell zur Anwendung im Kieferbereich konzipiert und sind mit auswechselbaren, verschiedenen geformten Gefrierköpfen ausgerüstet. In der Kältesonde ist neben den Elementen zur Stickstoffversorgung eine elektrische Heizung eingebaut, die sich nach Beendigung des Gefriervorganges automatisch einschaltet und den Sondenkopf beschleunigt erwärmt. Hierdurch taut die Sonde nach dem Gefriervorgang beschleunigt auf. Ein an der Sondenspitze gelagerter Temperaturfühler gewährleistet das Einhalten der vorgewählten Sondentemperatur. Die Kältesonde kann wahlweise im geschlossenen und offenen System eingesetzt werden. Bei der Anwendung der geschlossenen

Kältesonde verdampft der Stickstoff in einer Miniaturverdampferkammer des Sondenkopfes, während beim offenen System der flüssige Stickstoff direkt auf das zu vereisende Gewebe gesprüht wird.

Für unsere Gefrierversuche an extrahierten Zähnen haben wir ausschließlich eine geschlossene Gefriersonde mit einem Durchmesser von 15 mm und einer planen, kreisrunden Oberfläche verwandt.

Die Temperaturmessungen wurden mit Miniatur-Mantelthermoelementen („Thermocoax“ der Firma Philips Industrieelektronik Hamburg) vorgenommen. Die Thermoelemente hatten einen Außendurchmesser von 0,25 mm. Ihre Fehlergrenzen lagen bei $\pm 2,2$ °C. Die gemessenen Temperaturen wurden über einen elektronischen Kompensations-schreiber (Zweilinienschreiber „Comprecorder PM 8010“ der Fa. Philips Industrieelektronik Hamburg) registriert, hierbei diente als Vergleichsstelle ein elektronischer Thermostat, der eine konstante Vergleichstemperatur von + 50 °C mit einer Temperatur konstant von $\pm 0,2$ °C bei 10 °C Abweichung der Umgebungstemperatur von 20 °C lieferte. Der Meßbereich reichte von + 50 °C bis – 200 °C.

VERSUCHS ANORDNUNG



Kryomed

Wasserbad

Thermostat

Registriergerät

Versuchsanordnung : Von links nach rechts :
Kältegerät, Temperiergefäß mit Miniaturthermoelementen,
Thermostat, Zweilinienschreiber

B. Eichung der im Experiment eingesetzten 15mm geschlossenen Kältesonde.

Zunächst wurden zur Eichung des Gerätes und der Kältesonde die Temperaturen an der Sondenspitze bei verschiedenen vorgewählten Temperaturen aufgezeichnet. Dabei wurde der Gefriervorgang bei einer Temperatur von $-20, -30, -40, -60, -80, -160^{\circ}\text{C}$ über 90 sec. registriert. Hierzu befestigten wir je zwei Thermoelemente an der flachen Sondenspitze, wobei besonders auf den innigen Kontakt der Thermoelemente mit der Metalloberfläche der Sonde geachtet wurde. Dann erwärmten wir die Sondenspitze in einem Temperiergefäß mit einer Wassertemperatur von konstant 37°C . Bei dieser Umgebungstemperatur wurde die Eichung vorgenommen. Aus je 5 Eichkurven errechneten wir die statistischen Mittelwerte.

Auf Abb. 3 sind die Eichkurven einer Messung für die 15 mm Flachsonde dargestellt. Die Kurven zeigen deutlich, daß die Temperatur an der Sondenaußenfläche rasch auf die am Gerät vorgewählte Solltemperatur abfällt und dann kontinuierlich um einen Mittelwert pendelt. Diese Pendelbewegung ist durch die elektronische Steuerung mit einem diskontinuierlichen Stickstoffzufluß zur Sondenspitze bedingt. Bei Erreichen der Solltemperatur wird der Stickstoffzufluß unterbrochen und erst wieder geöffnet, wenn die Sonden-temperatur ansteigt und den Toleranzwert überschritten hat. Aus den Eichungen ergibt sich, daß die an der Sondenaußenfläche direkt gemessene, wirksame Temperatur mit dem

am Kältegerät eingestellten Sollwert weitgehend übereinstimmt oder sogar leicht darunter liegt. Wir können somit annehmen, daß die Anzeige der Sondeninnentemperatur am Kältegerät auch mit den effektiv erbrachten Sondenaußentemperaturen weitgehend übereinstimmt.

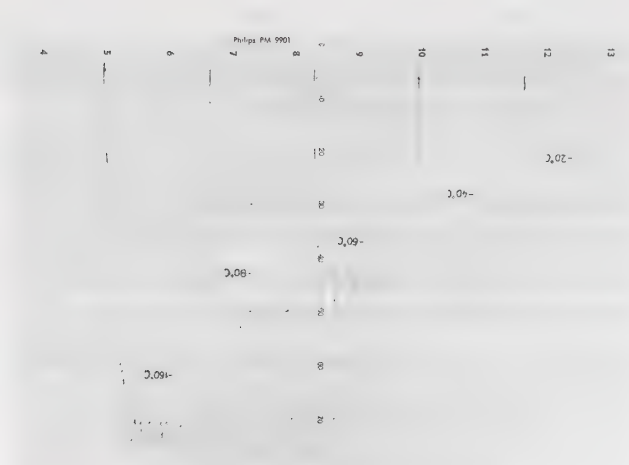


Abb. 3 (Eichkurve für geschlossene 15 mm Sonde bei -20°C , -40°C , -60°C , -80°C und -160°C ; $0^{\circ}\text{C} = 2,02 \text{ mV}$, $-50^{\circ}\text{C} = 3,88 \text{ mV}$, $-100^{\circ}\text{C} = 5,51 \text{ mV}$, Papiergeschwindigkeit 25 mm/min)

Tab. I Eichung der in unseren Versuchen verwandten Sonde (Durchmesser 15 mm) bei verschiedenen Solltemperaturen.

Ia			
1	Gewählte Einstellung am Kryomed:	−20,0 °C	−30,0 °C
2	Aus 5 Messungen errechnete Minimal-Temperatur:	−17,1 °C	−26,8 °C
3	Aus 5 Messungen errechnete Maximal-Temperatur:	−28,4 °C	−37,2 °C
Errechnete Mittelwerttemperatur			
4	Errechnete Mittelwerttemperatur an der Sonden- spitze:	−22,7 °C	−32,0 °C

Ib			
1	Einstellung	−40,0 °C	−60,0 °C
2	Minimal-Temperatur	−37,4 °C	−63,2 °C
3	Maximal-Temperatur	−49,0 °C	−74,8 °C
4	Mittelwert-Temperatur	−43,2 °C	−69,0 °C

	Ic		
1	Einstellung	−80,0 °C	−160,0 °C
2	Minimal-Temperatur	−83,6 °C	−155,2 °C
3	Maximal-Temperatur	−96,6 °C	−177,4 °C
4	Mittelwert-Temperatur	−90,1 °C	−166,3 °C

C. Kälteversuche an der Pulpa menschlicher Zähne

Die Temperaturmessungen wurden an frisch entfernten menschlichen Zähnen innerhalb von 2 Stunden nach der Extraktion durchgeführt. Es wurden je 5 Einzelzähne der Typen oberer Schneidezahn (I), oberer Prämolare (II) und oberer Molar (III) einer vorgewählten Temperatur von −40; −80; −120 und −160 °C vereist, wobei jede Messung zur Kontrolle wiederholt wurde.

Die Zähne wurden mit Hilfe einer zahnärztlichen Turbine und einem feinen Rosenbohrer am foramen apikale trepaniert. Zwei Thermoelemente wurden durch den Trepanationskanal so eingeführt, daß die Spitze des ersten Thermoelementes im Bereich der Kronenpulpa, die des zweiten Thermoelementes im Bereich der Wurzelpulpa gelagert war. Anschließend wurden die Thermoelemente mit Wachs fixiert und der Trepanationskanal verschlossen (s. Abb. 4).

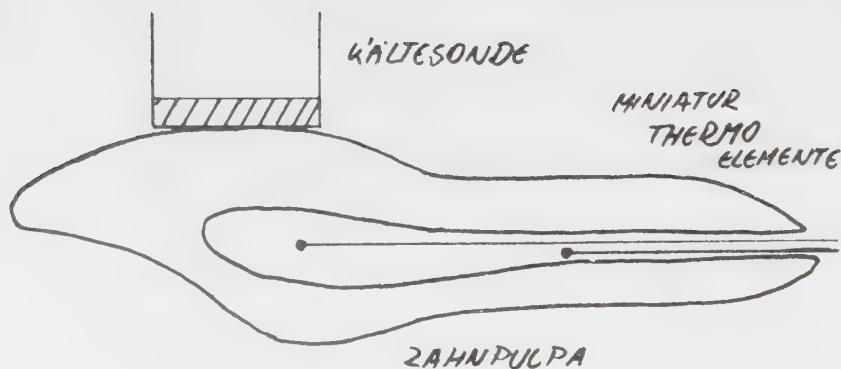


Abb. 4 Schematische Darstellung der Lage der Thermoelemente im Pulpencavum

Die Zähne wurden dann in einem Temperiergefäß auf eine konstante Temperatur von 37°C erwärmt. Die Registrierung der Pulpentemperatur erfolgte wie im Abschnitt III „Methodik“ beschrieben, kontinuierlich mittels des Zweilinienschreibers. Nach Erwärmung des Zahnes auf 37°C wurde die Sonde etwa in Höhe des Zahnaquators mit Hilfe eines Stativs aufgesetzt und der Gefriervorgang eingeleitet. Die Temperaturen im Pulpencavum wurden während des Vereisens über einen Zeitraum von 3 min. registriert. Die Werte

für Kronenpulpa und Wurzelpulpa wurden statistisch zu einem Mittelwert zusammengefaßt, tabellarisch aufgezeichnet und grafisch dargestellt.

Bei unseren Messungen an Schneidezähnen (Zahntyp I) registrierten wir bei einer vorgewählten Sondentemperatur von -40°C entsprechend unserer Tabelle nach 2 min. ein intrapulpaless Temperaturmittel von $-4,7^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. Gefrierzeit von $-9,6^{\circ}\text{C}$. Die entsprechenden Meßwerte an Prämolaren (Zahntyp II) waren nach 2 min. $+11,0^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. $+9,9^{\circ}\text{C}$. Messungen an Molaren (Zahntyp III) ergaben ein Temperaturmittel von $+9,8^{\circ}\text{C}$ nach 2 min. und $+3,0^{\circ}\text{C}$ nach 3 min.

Mit einer vorgewählten Temperatur von -160°C ergab sich am Zahntyp I nach 2 min. ein Mittelwert von $-33,4^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. ein Mittelwert von $-79,2^{\circ}\text{C}$. Am Zahntyp II registrierten wir nach 2 min. $-5,2^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. $-19,7^{\circ}\text{C}$. Für den Zahntyp III konnten wir nach 2 min. $-22,9$ und $+44,5^{\circ}\text{C}$ nach 3 min. registrieren.

TEMPERATURMESSUNGEN AN MENSCHLICHEN SCHNEIDEZÄHNEN

AUFGEZEICHNET SIND DIE AN DEN GEFRIERKURVEN ABGE-
LESENEN TEMPERATUREN NACH EINER GEFRIERDAUER VON
30 sec BIS 3 min

EINGESTELLTE UMGEBUNGSTEMP.	ZEIT				
		30"	1'	2'	3'
40°	S ₁	+14°	+0,7°	+0,8°	+0,4°
	S ₂	+18°	+11°	+0,8°	+0,4°
	S ₃	+31,0°	+20,5°	-0,5°	-12,5°
	S ₄	+30°	+0,65°	-19,0°	-26,0°
	S ₅	+23,5°	+8,0°	-5,5°	-10,5°
80°	S ₁	+20°	+0,25°	-10°	-19°
	S ₂	+24°	+0,75°	-0,3°	-10,1°
	S ₃	+25,5°	+0,8°	-0,75°	-19°
	S ₄	+21°	+0,65°	-18°	-29°
	S ₅	+22°	+0,6°	-4,5°	-18°
120°	S ₁	+25°	+10,0°	-18°	-35°
	S ₂	+24°	+0°	-33°	-48°
	S ₃	+28°	+0,9°	-22,5°	-40°
	S ₄	+27°	-0,5°	-39°	-55°
	S ₅	+25,5°	+2,5°	-27,5°	-44°
160°	S ₁	+25°	+0,8°	-22°	-25°
	S ₂	+22°	+0,5°	-37,5°	-101°
	S ₃	+27°	+14°	-19,5°	-62,5°
	S ₄	+19°	-0,7°	-56°	-29,5°
	S ₅	+21,5°	+2,5°	-32°	-28°

S₁ - S₅ = SCHNEIDEZAHN 1-5

TEMPERATURMESSUNGEN AN MENSCHLICHEN

PRÄMOLAREN

AUFGEZEICHNET SIND DIE AN DEN GEFRIERKURVEN ABGELESENEN TEMPERATUREN NACH EINER GEFRIERDAUER VON 30 SEC BIS 3 min

STELLE TEMP.	2617 30"	1'	2'	3'
0° P ₁	+ 34°	+ 28°	+ 18,9°	+ 12°
P ₂	+ 32°	+ 25°	+ 15°	+ 0,9°
P ₃	+ 27,5	+ 18,5°	+ 10°	+ 9,5°
P ₄	+ 24°	+ 13,5°	+ 0,6°	+ 0,05°
P ₅	+ 28°	+ 20°	+ 11°	+ 3°
10° P ₁	+ 0,7°	+ 24°	+ 12°	+ 0,1°
P ₂	+ 31°	+ 22°	+ 0,8°	- 0,4°
P ₃	+ 27°	+ 12°	+ 0,1°	- 0,5°
P ₄	+ 20°	+ 0,5°	- 0,6	- 13°
P ₅	+ 19,5°	+ 19,5°	+ 3°	- 3,5°
0° P ₁	+ 32°	+ 21°	+ 0,1°	- 11°
P ₂	+ 28,5°	+ 17,5°	+ 0,06°	- 19°
P ₃	+ 27,5°	+ 13°	- 0,3°	- 15°
P ₄	+ 22°	+ 0,9°	- 14°	- 23,5°
P ₅	+ 26°	+ 12,5°	+ 25°	- 16,5°
60° P ₁	+ 34°	+ 27°	+ 13°	- 0,9°
P ₂	+ 32°	+ 25°	+ 0,6°	- 27°
P ₃	+ 28°	+ 16°	- 12°	- 15°
P ₄	+ 24°	+ 0,35°	- 22°	- 36°
P ₅	+ 29,5°	+ 17°	- 5,6°	- 19,5°

P₁ - P₅ = PRÄMOLAR 1-5

TEMPERATURMESSUNGEN AN MENSCHLICHEN

MOLAREN

AUFGEZEICHNET SIND DIE AN DEN GEFRIERKURVEN ABGELESENEN TEMPERATUREN NACH EINER GEFRIERDAUER VON 30 sec BIS 3 min

INGESTELLTE
CONDENTEMP.

ZEIT

30"

1'

2'

3'

M₁ + 26° + 21° + 15° + 11°

M₂ + 24° + 18° + 10° + 0,6°

M₃ + 26° + 20,5° + 13 + 0,8°

M₄ + 25° + 10,5° + 0,85° + 0,3°

M₅ + 25,5° + 18,5° + 10,5° + 2,5°

M₁ + 26° + 20,5° + 0,7° + 0,2°

M₂ + 24° + 17,5° + 0,66° + 0,5°

M₃ + 23° + 13° - 0,1° - 0,25°

M₄ + 21° + 10° - 0,15° - 12°

M₅ + 23,5° + 15° + 0,4° - 2,6°

M₁ + 23° + 14° - 0,2° - 11,5°

M₂ + 19° + 0,25° - 12,5° - 21°

M₃ + 20° + 9,6° - 0,8° - 16°

M₄ + 25,5° + 16° - 2,05° - 13,5°

M₅ + 20,5° + 7° - 3,5° - 18°

M₁ + 25° + 0,15° - 19° - 45°

M₂ + 24,5° + 0,05° - 31° - 60°

M₃ + 20° + 0,66° - 21,5° - 33°

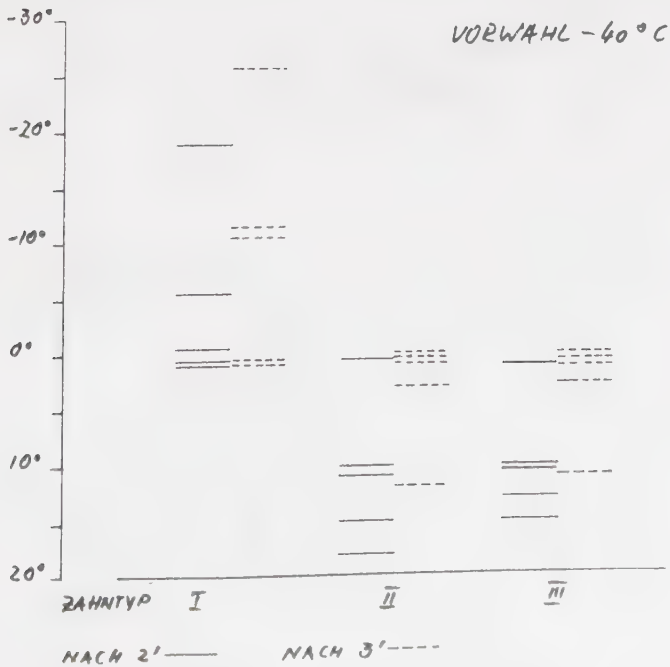
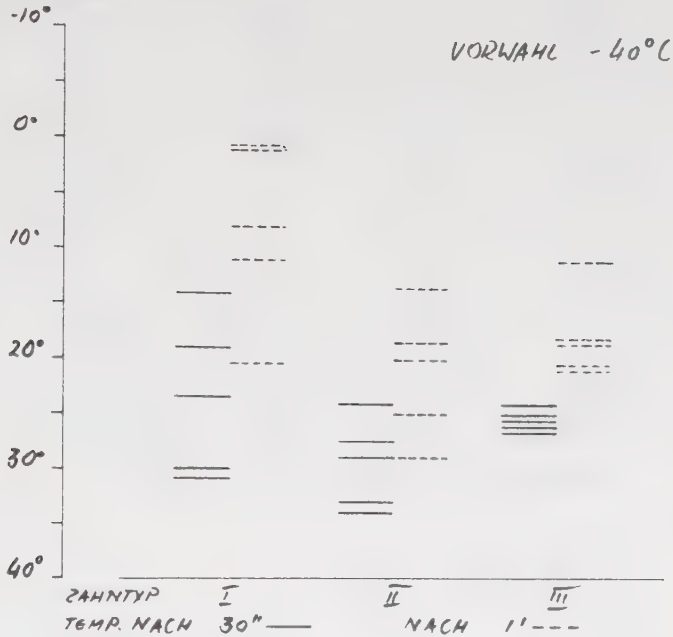
M₄ + 22,5° + 0,6° - 20,5° - 40°

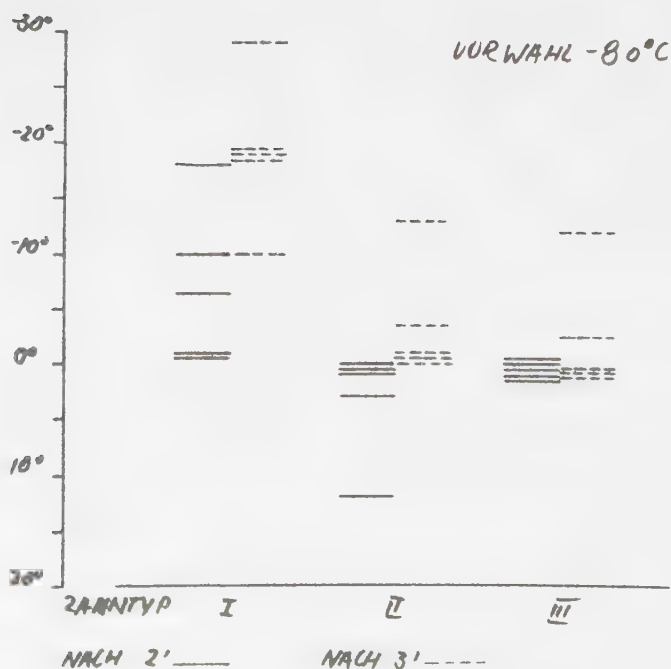
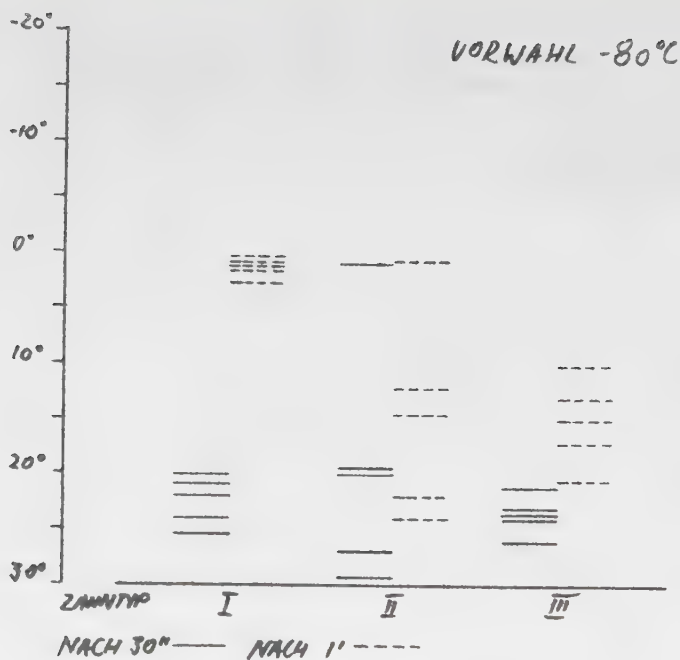
M₅ + 22,5° + 0,5° - 22,5° - 44,5°

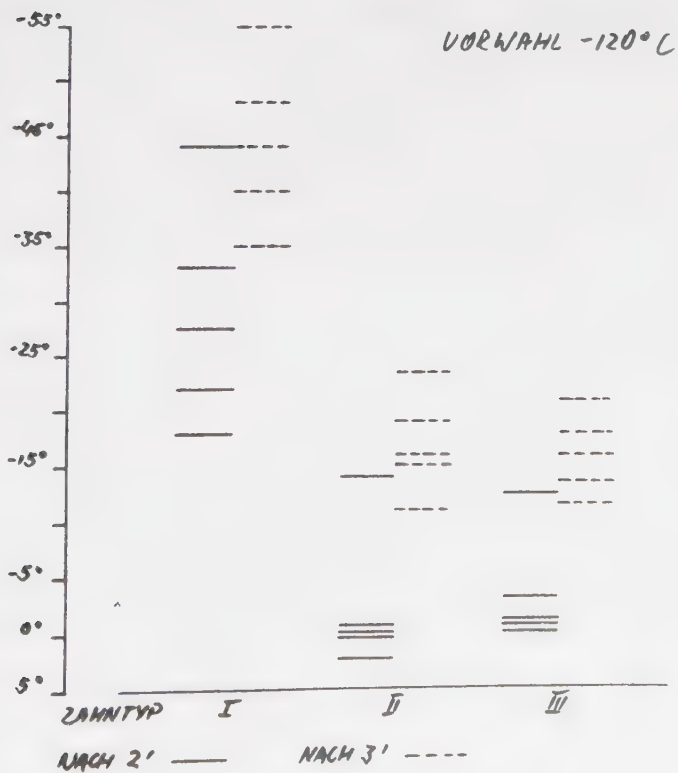
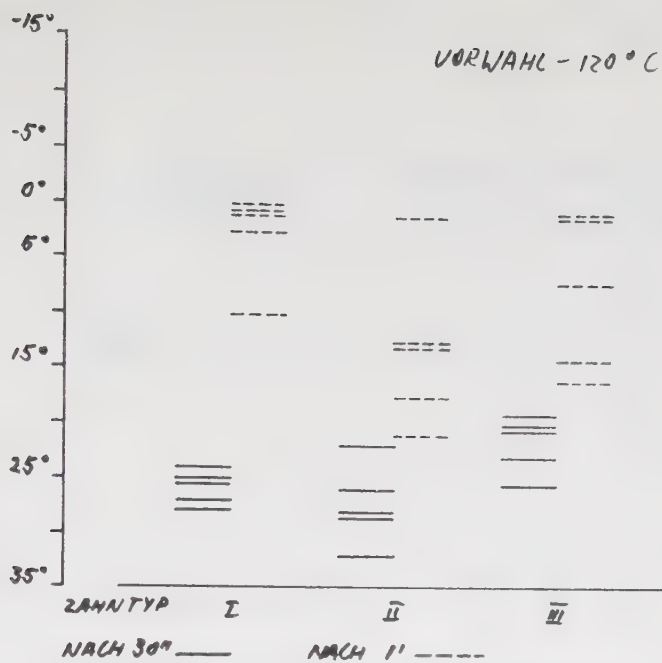
M₁ - M₅ = MOLAREN 1-5

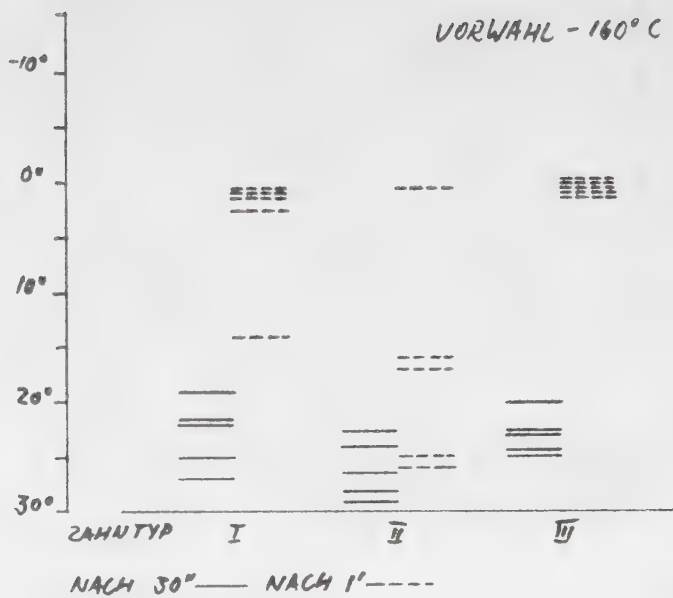
GRAFISCHE DARSTELLUNG DER BEI DEN TEMPERATUR-
MESSUNGEN REGISTRIERTEN EINZELWERTEN BEI
BESTIMMTEN VORGEWÄHLTEN TEMPERATUREN

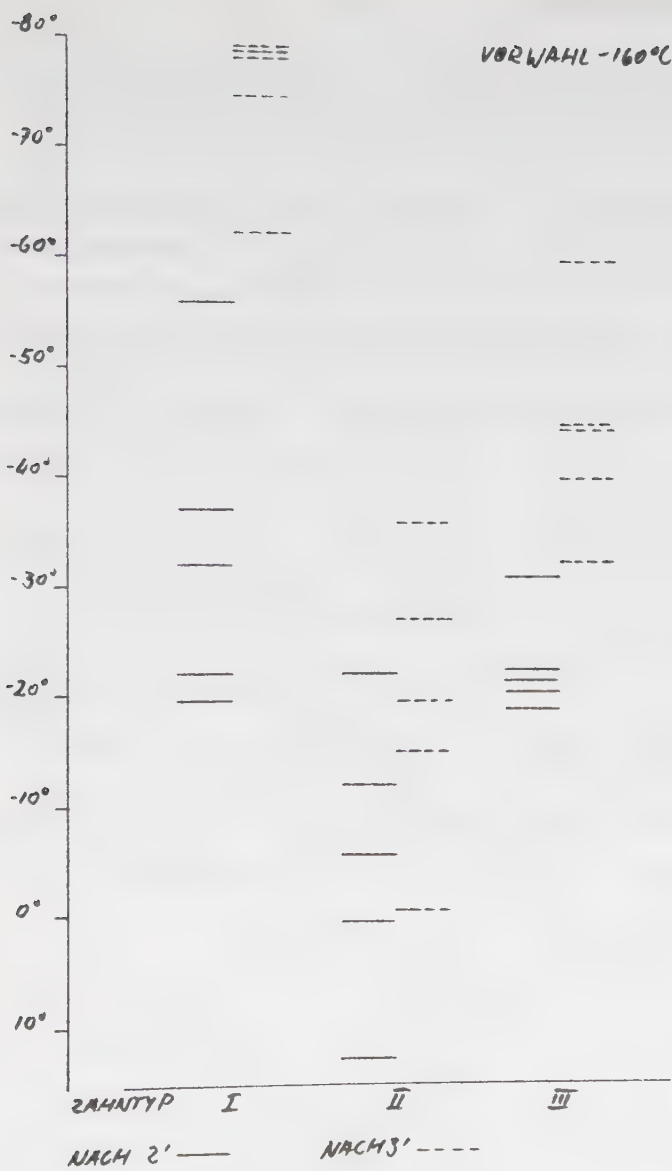
ERREICHTE
TEMP. IM PULPEN











IV. Diskussion

Gerlach et. al (1966) konnten an Hand ihrer Kälteversuche nachweisen, daß die Wärmeleitfähigkeit aller Gewebe annähernd gleich groß ist und daß die Art der Gewebe keinen Einfluß auf die Form und Größe eines Kälteherdes hat. Dies kann sich jedoch nur auf Weichteilgewebe beziehen, die eine annähernd gleiche Wärmeleitfähigkeit besitzen. Im Vergleich mit Kälteversuchen an isolierter Kaninchenmuskulatur (Hausamen, 1973) mit den vorgelegten Ergebnissen an verschiedenen Zähnen zeigt sich, daß die Hartschubstanz der Zähne wesentlich geringer wärme- bzw. kälteleitfähig ist als Muskelgewebe. So zeigt sich im direkten Vergleich, daß isolierte Kaninchenmuskulatur mit einer Sondentemperatur von -160°C eingefroren in 4 mm Abstand von der Sondenspitze nach 2 min. Gefrierzeit $-69,4^{\circ}\text{C}$ aufweist, während das Pulpengewebe unserer verwandten Schneidezähne ca. 4 mm von der Sonde entfernt nach 2 min. lediglich $-33,4^{\circ}\text{C}$, aufweist. Das Muskelgewebe kühlt also deutlich schneller ab als das von der Zahnhartschubstanz umschlossene Pulpengewebe. Durch die unterschiedlichen Wandstärken der Schneidezähne, Prämolaren und Molaren ergibt sich in unseren Gefrierversuchen eine unterschiedliche Abkühlung.

Schneidezähne weisen nach 2 min Gefrierzeit mit -40°C Sondentemperatur ein Temperaturmittel von $-4,7^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. von $-9,6^{\circ}\text{C}$ auf, wohingegen Prämolaren

nach 2 min. mit $-40^{\circ}\text{C} + 11^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. $+9,9^{\circ}\text{C}$ erreichten. Molaren wurden nach 2 min. Gefrierzeit bei -40°C mit $+9,8^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. mit $+3,0^{\circ}\text{C}$ registriert.

Bei Gefrierungen mit -80°C Sondentemperatur wurden in der Schneidezahngruppe nach 2 min. ein Mittel von $-7,1^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. ein Mittel von -19°C gemessen. Die Prämolaren zeigten nach 2 min. eine Temperatur von $+3,0^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. $-3,5^{\circ}\text{C}$ an. In den Molarenpulpen wurden bei -80°C Sondentemperatur nach 2 min. $+0,3^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. $-2,8^{\circ}\text{C}$ registriert.

Bei einer Sondentemperatur von -160°C werden in den Schneidezähnen nach 2 min. ein Mittel von $-33,4^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. ein Mittel von $-79,2^{\circ}\text{C}$ registriert. Die Prämolarengruppe zeigte nach 2 min. bei -160°C ein Temperaturmittel von $-5,2^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. ein Mittel von $-19,7^{\circ}\text{C}$. Bei den Molaren wurden mit -160°C Sondentemperaturen nach 2 min. $-22,9^{\circ}\text{C}$ und nach 3 min. $-44,5^{\circ}\text{C}$ registriert.

Aus unseren Versuchen läßt sich eindeutig ableiten, daß unter Zugrundelegung einer irreversiblen Zellschädigung bei Temperaturen unter -10°C , wie sie von Mazur (1966), Farrant (1971), Meryman (1956) als lethal angegeben wurden, Zähne, die mit -160°C über einen Zeitraum von 3 min. abgekühlt werden, mit Sicherheit der Pulpennekrose anheimfallen werden.

Hausamen (1973) berichtet, daß in seinen vergleichenden Messungen an Kaninchenmolaren Pulpen, die auf -10°C abgekühlt wurden, in jedem Fall nekrotisch wurden. Nach Langeland (1957, 1965) läßt diese Reaktion unter Berücksichtigung der unterschiedlichen anatomischen Situationen gewisse Rückschlüsse auf das Verhalten der menschlichen Pulpa zu.

Unsere Messungen wurden alle *in vitro* durchgeführt, das heißt, die Temperaturmessungen berücksichtigten die *in vivo* gegebene Aufwärmung der Pulpa durch den Blutstrom sowie durch das den Zahn umgebende Gewebe nicht. Hausamen (1973) berichtet, daß bei vergleichenden Messungen von isoliertem und durchblutetem Gewebe an allen Meßpunkten nach 1 min. keine signifikanten Unterschiede zu erkennen waren, daß die Endtemperaturen nach 5 min. im lebenden Gewebe aber signifikant höher liegen. Für die klinische Anwendung sind diese geringfügigen Unterschiede jedoch irrelevant, so daß die am isolierten Gewebe gewonnenen Werte den Lebendversuchen praktisch äquivalent sind und als Modell für die in lebendem Gewebe zu erwartenden Kälteherde angesehen werden können.

Bisherige histologische Untersuchungen über die Reaktion der Pulpa auf Kälteeinwirkung berücksichtigen nur Temperaturen bis um den Nullpunkt. Schmidt (1924), Kluczka (1952, 1953) und Riethe (1952) beobachteten nach Anwendung eines auf $+4^{\circ}\text{C}$ bis $+0^{\circ}\text{C}$ abgekühlten Luft-

stromes zur Dentinanaesthesie lediglich eine reversible Hyperämie. Arx (1954) konnte jedoch bei einer langsamen Abkühlung der Luft auf -4°C an der menschlichen Pulpa leichte oder stärkere vakuolige Degeneration der Odontoblastenschicht und im Pulpengewebe nachweisen.

Hausamen (1973) entnimmt seinen tierexperimentellen Untersuchungen für die klinische Anwendung der extremen Kälte zur Behandlung von oberflächlichen und tiefreichenden Veränderungen des zahntragenden Alveolarfortsatzes folgende Aussagen, die mit entsprechenden Untersuchungsergebnissen von Odrich und Kelman (1967), Heitman et. al (1969) übereinstimmen, daß einer längerdauernden Kälte-therapie mit tiefen Temperaturen um -160°C bis -180°C die betroffenen Zähne in den Kälteherd einbezogen werden und die Pulpen mit Sicherheit der Kältenekrose anheimfallen.

Bei der Behandlung mit kurzen Gefrierzeiten bis 30 sec. jedoch wird die Temperatur der unter dem Kälteherd liegenden Pulpen keinesfalls auf kritische Werte absinken und eine irreversible Pulpenschädigung nicht eintreten.

Für die klinische Anwendung der Kryotherapie können wir aus unseren Ergebnissen diese Folgerungen ziehen:

1. Bei kurz dauerndem direkten Kontakt Sonde-Zahn bis zu 60 sec. wird eine Abkühlung der Pulpa auf kritische Werte nicht stattfinden.
2. Bei direktem Kontakt Sonde-Zahn über 60 sec. hinaus muß mit irreversiblen Schäden in der Pulpa gerechnet werden.
3. Bei der Behandlung von Veränderungen der Mundschleimhaut und des Kieferknochens in der Nähe der Zähne ist unbedingt ein Kontakt der Sonde mit den Zähnen zu verhindern, da sonst eine Pulpennekrose zu erwarten ist.

V. Zusammenfassung

Zur Einführung in die Problematik der Kryotherapie werden kryobiologische Grundlagen dargestellt. Die Wirkung extremer Kälte auf lebende, isolierte Zellen sowie die besondere Bedeutung der Gefriergeschwindigkeit auf die Überlebensrate eingefrorenen Zellen wird dargestellt.

Die bei unseren Versuchen verwendeten Geräte werden vorgestellt und beschrieben, die eingesetzten Sonden und das verwendete Kälteaggregat werden temperaturgeeicht und die tatsächlich erreichten Temperaturen werden den Solltemperaturen gegenübergestellt.

Unsere experimentellen Untersuchungen haben zum Ziel, festzustellen, ob ein im Bereich des Kälteherdes gelegener Zahn im Pulpencavum ähnlich niedrige Temperaturen aufweist wie das umliegende Gewebe oder ob die Zahnhartsubstanz isolierend wirkt und welche Reaktionen der Zahnpulpa nach einem Gefrierprozeß zu erwarten sind. Wir konnten feststellen, daß die Temperatur im Pulpencavum bei extremer Vereisung im Vergleich zu der Temperatur des umgebenden Gewebes geringer abfällt, jedoch mit länger dauernder Gefrierzeit kritische Werte annimmt und bei direktem Kontakt der Zahnkrone mit der Kältesonde nach 1 min. mit einer irreversiblen Schädigung zu rechnen ist.

Danksagung

Prof. Dr. Dr. Hausamen spreche ich für die freundliche Überlassung des Themas und die verständnisvolle Beratung meinen aufrichtigen Dank aus.

Herrn Prof. Scheunemann danke ich für die Erlaubnis, die Einrichtungen der Klinik benutzen zu dürfen.

Prof. Dr. Dr. W. Ketterl danke ich für die Übernahme des Ko- Referates.

Dr. Foltin vom Institut für Medizinische Statistik und Dokumentation danke ich für die freundliche Unterstützung meiner Arbeit.

VI. Literaturverzeichnis

von ARX, H.:

Dentinanaesthesie mit dem Nondolorgerät und Dentatronverfahren im Lichte klinischer und histologischer Untersuchungen.

Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 64, 429-482 u. 582-622 (1954)

CAHAN, W. G.:

Cryosurgery of malignant and benign tumors.

Fed. Proc. 24, 241-248 (1965)

COOPER, J. S. and A. S. LEE:

Cryostatic congelation: A system for producing a limited, controlled region of cooling or freezing of biologic tissue.

J. Nerv. Ment. Dis. 133, 259-263 (1961)

COOPER, J. S.:

Cryobiology: The basis for cryosurgery

Cryogenics in surgery; Leden, H., Cahan W. G.,

Hans Huber Publishers Bern, Stuttgart, Vienna 1971 (15)

FARRANT, J.:

Cryobiology: The basis for cryosurgery.

In: cryogenics in surgery. Hrsg. v. von Leden und W. G. Cahan.

Huber, Bern, Stuttgart, Vienna (1971), S. 15 - 41.

GERLACH, J., G. PESCHEL, S. SCHUBERT, H. SPULER
und K. STUCKE.:

Grundlagen der operativen Anwendung tiefer Temperaturen
in der klinischen Medizin.

II. Mitteilungen: Das Verhalten von Geweben in vitro
lokalisierter Abkühlung und Vereisung.
Z. ges. exp. MED. 140, 248 - 255 (1966)

GILL, W., J. FRASER und D. C. CARTER:
Repeated freeze-thaw cyclar in cryosurgery.
Nature (LOND.) 219, 41= - 413 (1968)

HAUSAMEN, J. E.:
Klinische und experimentelle Untersuchungen zur
Kryochirurgie im Kiefer- und Gesichtsbereich.
Habil. Schrift (1973)

HEITMAN, K., H. L. DORMAN und C. K. COLLINGS:
Temperature recordings in the dental pulp during
cryosurgery.
J. Periodont. 40, 655 - 658 (1969)

KLUCZKA, J.:
Überblick über die Dentinaesthesia unter besonderer
Berücksichtigung der thermisch-physikalischen Methoden.
Zahnärztl. Rdsch. 61, 113 - 117 (1952)

KLUCZKA, J.:

Histologische Pulpenuntersuchungen bei der
Dentinanaesthesie mittels gekühlter Luft.

Dtsch. Zahnärztl. Z. 8, 225 - 258 (1953)

LANGELAND, K.:

Tissue changes in the dental pulp. an experimental
histologie study.

Odont. J. 65, 241 - 396 (1957)

LANGELAND, K.:

Biologisches Prüfverfahren zur Beurteilung zahnärztlicher
Materialien.

Dtsch. Zahnärztl. Z. 20, 1291 - 1299 (1965)

LOVELOCK, J. E.:

The haemolysis of human red blood-cells by freezing
and thawing.

Biochem. biophys. acta (Amst.) 10, 414 - 426 (1953)

LOVELOCK, J. E.:

Biophysical aspects of the freezing and thawing of
living cells.

Proc. Roy. Soc. B. 47, 60 - 64 (1954)

LOVELOCK J. E.:

The denuration

The denaturation of lipid-protein complexes as a cause of damage by freezing.

Proc. Roy. Soc. Med. 147, 427 - 433 (1957)

LUYET, B. J.:

On the growth of the ice phase in aqueous colloids.

Proc. Roy. Soc. Med. 147, 434 - 451 (1957)

LUYET, B. J. und P. M. GEHENIO:

Life and death at low temperatures.

Biodynamica, Normandy, Missouri, (1940)

MAZUR, P.:

Physical faktor implicated in the death of micro-organisms at subzero temperatures.

Ann. N. Y. Acad. Sci. 85, 610 - 629 (1960)

MAZUR, P.:

Causes of injury in frozen and thawed cells.

Fed. Proc. 24, 175 - 182 (1965)

MAZUR, P.:

Theoretical and experimental effects of cooling and warming velocity on the survival of frozen and thawed cells.

Cryobiology 2, 181 - 192 (1966)

MAZUR, P.:

Physical-chemical factor underlying cell injury in cryosurgical freezing.

In: cryosurgery. Hrsg. von Rand, Rinfret und von Leden. Thomas, Springfield S. 32 - 51 (1968)

MAZUR, P. und J. J. SCHMIDT:

Interaction of cooling velocity, temperature and warming velocity on the survival of frozen and thawed yeast.

Cryobiology 5, 1-17 (1968)

MERYMAN, H. T.:

Mechanics of freezing in living cells and tissues.

Science 124, 515 - 521 (1956)

MERYMAN, H.T.:

Physical limitations of the rapid freezing methods.

Proc. Roy. Soc. Med. 147, 452 - 459 (1957)

ODRICH, R. B. und C. D. KELMAN:

Cryotherapy, a new and experimental approach to the treatment of periodontal disease.

Periodontics 5, 313 - 317 (1969)

OPENCHOWSKI, P.:

Sur l'action localisée du froid, appliqué à la surface de la région corticale du cerveau.

C. R. Soc. Biol. (Paris) 35, 38 - 43 (1883)

POLGE, C.:

Low temperature storage of mammalian spermatozoa.

Proc. Roy. Soc. Med. 147, 498 - 508 (1957)

RIETE, P.:

Klinische Erfahrungen mit dem Nondolor-Apparat.

Zahnärztl. Rdsch. 61, 133 - 135 (1952)

RINFRET, A. P.:

Cryobiology-some fundamentals in surgical context.

In: Cryosurgery. Hrsg. von Rand, Rinfret und von Leden

Thomas, Springfield, S. 19 - 31 (1968)

RINFRET, A. P.: RAND, R. W.; LEDEN, H. cryosurgery

CHARLES C. THOMAS Publishers. Springfield, Illinois, USA

SCHMIDT, P.:

Über die Einwirkung der Kälte auf die lebende Pulpa, speziell bei Anwendung tiefer Temperaturen zur Bekämpfung des hypersensiblen Dentins.

Schweiz. Mschr. Zahnheilk. 24, 56 - 95 (1924)

VII. Lebenslauf

Am 16. Oktober 1948 wurde ich, Hubert Stieve, als Sohn des Dr. Robert Stieve und seiner Frau Karin, geb. Schneider, in Berlin geboren. 1954 wurde ich in Berlin Tiergarten eingeschult. Von 1960 bis 1964 besuchte ich den neu-sprachlichen Zweig des Gymnasiums Menzel-Schule in Berlin-Tiergarten. Im Sommer zogen meine Eltern nach Neustadt an der Weinstraße um, wo ich in das staatliche Leibniz-Gymnasium eintrat. Im Sommer 1968 legte ich dort die Reifeprüfung ab. Nach einem 2-monatigen Praktikum in einem zahntechnischen Labor begann ich im Oktober 1968 mit dem Studium der Zahnmedizin an der Johannes Gutenberg-Universität Mainz. Nach 5 Semestern, im Frühjahr 1972, legte ich das Physikum ab. Nach 5 klinischen Semestern bestand ich im November 1973 das Staatsexamen. Zur Zeit arbeite ich als Zahnarzt in der Zahnklinik des 97th. GENERAL HOSPITAL der U. S. Army in Frankfurt.

